

**BIOCHEMICAL CALCULATIONS**  
How to Solve Mathematical Problems in General Biochemistry  
Second Edition

**IRWIN H. SEGEL**  
Department of Biochemistry and Biophysics  
University of California  
Davis, California

**BEST AVAILABLE COPY**

JOHN WILEY & SONS, INC. New York • London • Sydney • Toronto

Authorized translation from English language edition  
published by John Wiley & Sons, Inc., New York

© 1979 日本精細出版株式会社 廣川書店

無断転載を禁ず。

English translation of BIOCHEMICAL CALCULATIONS (IRVIN H. SEGEL), page 251, line 1 from the bottom to page 252, line 4 from the bottom

#### Problem 4-4

The following measurement results were obtained as regards the substrate  $\rightarrow$  product ( $S \rightarrow P$ ) reaction catalyzed by an enzyme. (a) Calculate  $V_{max}$  and  $K_m$ . (b) What is  $v$  when  $[S]$  is  $2.5 \times 10^{-3} M$  and  $5 \times 10^{-3} M$ ? (c) Calculate  $v$  at  $5.0 \times 10^{-3} M$  when enzyme concentration doubled. (d) In this Table,  $v$  was determined by measuring the concentration of product accumulated in 10 min. Confirm that  $v$  means a true initial (or "sokuten") rate.

$[S]$ (M)	$v$ (nmol/L·min)
$6.25 \times 10^{-4}$	15.0
$7.50 \times 10^{-3}$	56.25
$1.00 \times 10^{-2}$	60
$1.00 \times 10^{-3}$	74.9
$1.00 \times 10^{-2}$	75

#### Answer

(a) The best method to obtain  $V_{max}$  and  $K_m$  is to plot this data using any of the below-mentioned methods. However, in this Problem, it is understood that when  $[S]$  becomes not less than  $10^{-2}$ ,  $v$  is not dependent on the change of  $[S]$ . In other words, in the range of from  $[S] = 10^{-3}$  to  $10^{-2} M$ ,  $v$  must be a value very close to  $V_{max}$ .

$$V_{max} = 75 \text{ nmol/Liter} \cdot \text{min}^{-1}$$

To solve  $K_m$ ,  $v$  (any) and the corresponding  $[S]$  need only be taken.

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad \frac{60}{75 \times 10^{-4}} = \frac{10^{-2}}{K_m + 10^{-2}}$$

$$K_m = \frac{15 \times 10^{-4}}{60} = 0.25 \times 10^{-2}$$

$$K_m = 2.5 \times 10^{-4} M$$

As long as this enzyme follows the formula of Henri-Michaelis-Menten, the same answer will be obtained from any combination of different data.

*This book is dedicated with much love  
to my sons Jonathan and Daniel*

Copyright © 1968, 1976, by John Wiley & Sons, Inc.

All rights reserved. Published simultaneously in Canada.

No part of this book may be reproduced by any means, nor transmitted, nor translated into a machine language without the written permission of the publisher.

Library of Congress Cataloging in Publication Data

Segel, Irwin H. 1935-

Biochemical calculations.

Includes index.

1. Biological chemistry--Problems, exercises,

etc. I. Title.

QD415.354 1975

ISBN 0-471-77481-9

75-23140

Printed in the United States of America

10 9 8 7 6 5 4 3 2

# シーゲル 生化学計算法

東京医科歯科大学助教授

自治医科大学教授

東京医科歯科大学教授

林 利彦

石倉 久之

永井 裕

共訳

第2版



東京 廣川書店 発行

## 250 4. 酵

案

$$v_{\text{ZQ}} = \frac{k_1[E] \frac{[S]}{K_s} - k_{-1} \frac{[P]}{K_p}}{1 + \frac{[S]}{K_s} + \frac{[P]}{K_p}}$$

$$v_{\text{ZQ}} = \frac{V_{\text{max}} \frac{[S]}{K_s} - V_{\text{max}} \frac{[P]}{K_p}}{1 + \frac{[S]}{K_s} + \frac{[P]}{K_p}} \quad (5)$$

あるいは

$$v_{\text{ZQ}} = \frac{V_{\text{max}} \left( \frac{[S]}{K_s} - \frac{[P]}{K_p} \right)}{K_s \left( 1 + \frac{[P]}{K_p} \right) + [S]} \quad (6)$$

ここで

$$K_{\text{app}} = \frac{V_{\text{max}} K_s}{V_{\text{max}} K_p}$$

定常状態の取扱いでは  $K_s$  および  $K_p$  の代りに  $K_{\text{app}}$  および  $K_m$  を用いれば、同じような最終的な式が得られる。通常の式の分子中の  $[S]$  の代りに、上式では  $[S]$  と  $[S]$  の平衡における値との差を用いる。分母中の  $K_s$  の項は基質に対する枯死阻害剤として生成物が働いているように修正する。いいかえると、正味の初速度は系の平衡からのずれ（すなわち、熱力学的駆動力）と生成物に結合している酵素量に依存する。枯死阻害については後節でさらに詳しく説明する。

## 速度対基質濃度曲線

Henri-Michaelis-Menten の式から初速度を基質濃度に対してプロットしたときの曲線が描かれる。図 4-7 に示した曲線は直交双曲線で、漸近線は  $V_{\text{max}}$  と  $-K_m$  である。この曲線の形は  $K_m$  および  $V_{\text{max}}$  の値に関係なく一定である。したがって、 $V_{\text{max}}$  を 1 にしたとき、縦軸のどの 2 点をとっても、その 2 点での基質濃度の比は Henri-Michaelis-Menten の速度論に従うすべての酵素で等しくなる。例えば  $V_{\text{max}}$  の 90% になるに必要な基質と  $V_{\text{max}}$  の 10% になるに必要な基質の比は以下に示すように常に 81 である。

$$v = 0.9 V_{\text{max}} \text{ のとき } 0.9 = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad [S]_{0.9} = 9 K_m$$

$$v = 0.1 V_{\text{max}} \text{ のとき } 0.1 = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad [S]_{0.1} = \frac{K_m}{9}$$

## B. 酵素速度論 251

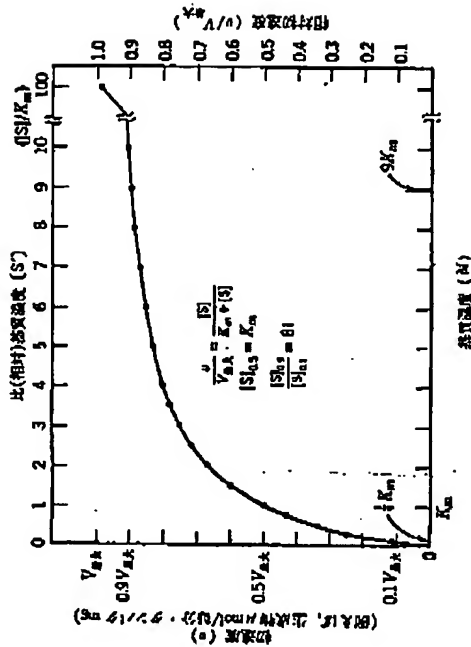


図 4-7 v 対  $[S]$  プロットの曲線の形は一定である。  $[S]_{0.9}/[S]_{0.1}$  は  $K_m$  および  $V_{\text{max}}$  の絶対値とは無関係で常に 81 に等しい。

$$\therefore \frac{[S]_{0.9}}{[S]_{0.1}} = 81$$

図 4-3

(a)  $[S] = 4 K_m$ ,  $[S] = 5 K_m$ ,  $[S] = 6 K_m$ ,  $[S] = 9 K_m$  および  $[S] = 10 K_m$  のとき、 $V_{\text{max}}$  を 1 とすると  $v$  はいくらになるか。 (b)  $[S]_{0.9}/[S]_{0.1}$  および  $[S]_{0.9}/[S]_{0.1}$  の比を計算せよ。

解答

(a) 代入しなくともすぐに答がでるはずである。

$$[S] = 4 K_m \text{ では } v = \frac{4}{5} V_{\text{max}}, [S] = 5 K_m \text{ では } v = \frac{5}{6} V_{\text{max}}, [S] = 6 K_m \text{ では } v = \frac{6}{7} V_{\text{max}}, [S] = 9 K_m \text{ では } v = \frac{9}{10} V_{\text{max}}, [S] = 10 K_m \text{ では } v = \frac{10}{11} V_{\text{max}}$$

(b) 上に示したように  $[S]_{0.9} = 9 K_m$  であり  $[S]_{0.1} = K_m$  である。したがって  $[S]_{0.9}/[S]_{0.1}$  は 9 である。  $V_{\text{max}}$  および  $K_m$  の絶対値に無関係である。  $[S] = 9 K_m$  では  $0.75 V_{\text{max}}$  になる。したがって  $[S]_{0.9}/[S]_{0.1}$  は 9 である。

図 4-4

## 252 4. 解 案

酵素によって触媒される基質  $S \rightarrow P$  の反応について下記の測定結果を得た。(a)  $V_{\text{max}}$  と  $K_m$  を求めよ。(b)  $[S]$  が  $2.5 \times 10^{-3} M$  および  $5 \times 10^{-3} M$  のときの  $v$  はいくらか。(c) 酵素濃度が2倍になったとき、 $5.0 \times 10^{-3} M$  での  $v$  を求めよ。(d) ここにおけた表中の  $v$  は10分間に蓄積した生成物の濃度を測定して決めた。 $v$  が其の初 (あるいは“印点”) 速度を意味していることを確かめよ。

$[S]$	$v$
(M)	(nmol/l·min)
$6.25 \times 10^{-3}$	15.0
$7.50 \times 10^{-3}$	56.25
$1.00 \times 10^{-2}$	60
$1.00 \times 10^{-2}$	74.9
$1.00 \times 10^{-2}$	75

解答

(a)  $V_{\text{max}}$  と  $K_m$  を得る最良の方法は後に述べる方法のいずれかを用いてこのデータをプロットすることである。しかしこの問題の場合、 $[S]$  が  $10^{-3} M$  以上になると  $v$  は  $[S]$  の変化に関係しないことがわかる。すなわち、 $[S] = 10^{-2}$  から  $10^{-3} M$  の領域で、 $v$  は  $V_{\text{max}}$  に非常に近い値であるにちがいない。

$$V_{\text{max}} = 75 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$$

$K_m$  について解くには、 $v$  (いずれでも) とそれに対応する  $[S]$  をとればよい。

$$\frac{v}{V_{\text{max}}} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad \frac{60}{75} = \frac{10^{-3}}{K_m + 10^{-3}}$$

$$75 \times 10^{-3} = 60 K_m + 60 \times 10^{-3}$$

$$K_m = \frac{15 \times 10^{-3}}{60} = 0.25 \times 10^{-3}$$

$$K_m = 2.5 \times 10^{-4} M$$

この酵素が Henri-Michaelis-Menten の式に従い限り、他のどのデータ- $v$  の組み合わせをとっても同じ答になるはずである。

(b)  $[S] = 2.5 \times 10^{-3} M = K_m$  では  $v = 0.5 V_{\text{max}}$

すなわち

$$v = 37.5 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$$

## B. 酵素速度論 253

$[S] = 5.0 \times 10^{-3} M$  では

$$\frac{v}{75} = \frac{5 \times 10^{-3}}{(2.5 \times 10^{-3}) + (5 \times 10^{-3})} = \frac{5}{7.5}$$

$$v = \frac{(5)(75)}{7.5} \quad \text{すなわち} \quad v = 50 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$$

$[S] = K_m$  のとき、 $v$  は  $0.5 V_{\text{max}}$  であるけれども、 $[S] = 2 K_m$  のとき  $v$  が  $V_{\text{max}}$  になるわけではないことに注意せよ。ここで取っているのは直線関係ではなくて、双曲線関係である。

(c) Henri-Michaelis-Menten の式は次のように書くことができる。

$$v = \frac{[S]}{K_m + [S]} \cdot k_p [E]_t$$

したがって、 $v$  はどの酵素濃度でも酵素速度に正比例する。 $[S] = 5 \times 10^{-3} M$  で  $[E]_t$  を2倍にすると  $V_{\text{max}}$  も2倍になるので、 $v$  も2倍になる。

$$\therefore v = 100 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$$

(d) 酵素速度が活性測定中実質的に一定のままであるときのみ、すなわち、 $[S]$  のうちのほんの少量だけが消費されるときのみ、速度は真の初 (あるいは印点) 速度となると考えられる。 $K_m$  に比べて酵素速度が相対的に高いときは問題はない。 $[S]$  がもっとも小さいときの基質の消失について検討しておこう。 $6.25 \times 10^{-3} M$   $[S]$  のときのみかけの  $v$  は  $15 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$  あるいは言いかえると、10分間に  $150 \text{ nmol}$  / リットルの  $P$  が生まれる (そして  $150 \text{ nmol}$  の  $S$  が消失する)。

$$\frac{S \text{ の消費量 } 150 \times 10^{-3} \text{ mol} / \text{リットル}}{S \text{ の初めの存在量 } 6.25 \times 10^{-3} \text{ mol} / \text{リットル}} = \frac{0.150 \times 10^{-3}}{6.25 \times 10^{-3}}$$

$$= 0.024 \quad \text{あるいは} \quad 2.4\%$$

$S$  のうちの2.4%が消費されただけである。5%以下ならよい。

## 問題 4-5

反応  $S \rightleftharpoons P$  の平衡定数は5である。ここに  $[S] = 2 \times 10^{-3} M$  および  $[P] = 8 \times 10^{-3} M$  の混合物があるとしよう。 $K_{\text{eq}} = 3 \times 10^{-3}$  秒、 $V_{\text{max}} = 2 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$ 、 $V_{\text{max}} = 4 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$ 。(a) 適当な酵素を添加したとき、この反応はどちらの方向へ進むであろうか。(b) 反応が平衡に向って進みはじめるとき、この初速度はいくらか。

シークル・生化学計算法

一第2版一

既省本記  
横印省略

定価 5,800.-

永石林 井倉久利 裕之彦 初版発行 昭和46年8月31日  
 発行所 廣川節男 昭和54年6月25日 第2版 昭和55年6月25日 第2版

印刷所 日本印刷株式会社  
 製本所 神田・松林製本所

発行所 株式会社 廣川書店

〒113-91 東京都文京区本郷3丁目27番14号  
 接 管 東京 82694 番  
 電話 東京 (03) (815) 3651 代表

自然科学書協会員・高等教科書協会員

Hirokawa Publishing Co.

27-14, Hongō-3, Bunkyo-ku, Tokyo

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

### **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**